

# NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG SỨC SỐNG CỦA TINH TRÙNG ĐẾN KẾT QUẢ THỤ TINH TRONG ỐNG NGHIỆM

Nguyễn Thị Thái Thanh, Lê Minh Tâm, Nguyễn Văn Trung, Nguyễn Thị Tâm An, Cao Ngọc Thành  
Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế

DOI 10.46755/vjog.2018.4.497

**Từ khóa:** sức sống tinh trùng, ICSI, vô sinh nam.  
**Keyword:** sperm survival, ICSI, male infertility.

## Tóm tắt

**Đặt vấn đề:** Kiểm tra sức sống tinh trùng (sperm survival test – SST) được phát triển như là một xét nghiệm nâng cao để đánh giá khả năng sống của tinh trùng trong điều kiện in vitro. Chúng tôi tiến hành đánh giá sức sống của tinh trùng sau lọc rửa với các mốc thời gian 0 giờ, 24 giờ và 48 giờ từ đó nghiên cứu ảnh hưởng của sức sống tinh trùng đến kết quả ICSI.

**Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu trên 100 cặp vợ chồng vô sinh điều trị tại Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh – Bệnh viện Đại học Y Dược Huế (HUECREI) từ tháng 01/2017 đến tháng 12/2017. Mẫu tinh trùng được lọc rửa và nuôi cấy. Độ di động, sức sống được đánh giá sau khi nuôi cấy cùng với kết quả ICSI.

**Kết quả:** Nhóm có sức sống tinh trùng bình thường (tỷ lệ tinh trùng sống  $\geq 58\%$  sau 24 giờ và  $\geq 20\%$  sau 48 giờ nuôi cấy) – nhóm 1 cho MSI (motility survival index) và VSI (vitality survival index) cao hơn nhóm 2 – nhóm có sức sống tinh trùng bất thường, lần lượt là 55,7% so với 26,72% và 77,83% so với 41,47% ( $p < 0,05$ ). Tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ tạo phôi tốt của nhóm 1 (85,29% và 71,38%) cao hơn nhóm 2 (81,74% và 50,15%). Nhóm 1 có tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ thai diễn tiến (lần lượt là 38,18% và 29,1%) khác biệt so với nhóm 2 (lần lượt là 24,44% và 28,89%).

**Kết luận:** Tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới và sức sống tinh trùng giảm dần theo thời gian nuôi cấy. Sức sống tinh trùng có mối tương quan đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm: kết quả thụ tinh trong ống nghiệm tốt hơn khi sử dụng tinh trùng có sức sống bình thường, nhóm sử dụng tinh trùng có sức sống bình thường có tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi tốt, tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ thai diễn tiến cao (lần lượt là 85,29%, 71,38%, 38,18% và 29,1%).

**Từ khóa:** sức sống tinh trùng, ICSI, vô sinh nam.

## Abstract

THE EFFECT OF SPERM SURVIVAL ON IN VITROFERTILIZATION OUTCOME

**Background:** The sperm survival test is an advanced assay to assess

the vitality of spermatozoa in IVF. We evaluated the vitality of sperm after preparing for ICSI at 0h, 24h and 48h. The effect of sperm survival on ICSI outcome was studied.

**Materials and methods:** A retrospective study of 100 infertile couples treated at the Hue Center for Reproductive Endocrinology and Infertility - Hue University Hospital (HUECREI) from January 2017 to December 2017 was performed. The sperm samples were prepared for ICSI before incubated. The motility and vitality, as well as the ICSI results, were evaluated.

**Results:** The group 1 with normal sperm survival parameter which having vitality rate  $\geq 58\%$  after 24h and  $\geq 20\%$  after 48h had MSI and VSI significantly higher than group 2 whose survival was abnormal (55.7% vs 26.77%, 77.83% vs 41.47%, respectively). The fertilization rate and good quality embryos formation rate in group 1 (85.29% and 71.38%) were different from those in group 2 (81.74% and 50.15%). Normal survival group resulted in better clinical pregnancy rate and on-going pregnancy rate (38.18% and 29.1% respectively) than the remain (24.44% and 28.89%, respectively).

**Conclusion:** The sperm PR and vitality rate were decreased following culture time. Sperm survival had correlation with ICSI outcome: The ICSI results were better when using sperm with normal survival, normal survival sperm group had higher fertilization rate, good quality embryos formation rate and on-going pregnancy rate (85,29%, 71,38%, 38,18% and 29,1%, respectively).

**Key words:** sperm survival, ICSI, male infertility.

## 1. Đặt vấn đề

Vô sinh là một trong những vấn đề mà con người đang phải đối mặt ở thế giới hiện đại. Trong các nguyên nhân vô sinh, vô sinh nam chiếm khoảng 30% và trong đó 90% là do bất thường tinh trùng. Người chồng cần thực hiện xét nghiệm tinh dịch đồ trước khi có chỉ định điều trị vì đây là một phần của chẩn đoán tiêu chuẩn thường quy cho các cặp vợ chồng vô sinh. Tinh dịch đồ có thể cung cấp các thông số về số lượng, chất lượng tinh trùng như mật độ, độ di động và hình thái. Ngoài ra, khi thực hiện xét nghiệm tinh dịch đồ, các quá trình sinh tinh bất thường hay tình trạng nhiễm trùng cũng có thể được phát hiện thông qua sự xuất hiện của các tế bào lạ. Quy trình xét nghiệm tinh dịch đồ được tiến hành theo khuyến cáo của Tổ chức Y tế thế giới WHO (2010) [19].

Tuy nhiên, các chỉ số trên tinh dịch đồ chưa thể phản ánh hoạt động chức năng của tinh trùng, trong khi 35% đến 50% các trường hợp vô sinh nam là do bất thường về sản xuất hay

hoạt động chức năng tinh trùng [16]. Bởi vì tinh dịch đồ không cho biết rõ về khả năng sinh sản của nam giới nên cần có thêm các xét nghiệm khác để tìm hiểu thêm nguyên nhân của những trường hợp bất thường, từ đó cung cấp thêm thông tin giúp ích cho quá trình điều trị phù hợp với bệnh nhân hơn. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng tỷ lệ sống của tinh trùng thấp hoặc số tinh trùng bất động nhiều có liên quan đến vô sinh ở nam giới. Vì vậy, kiểm tra sức sống tinh trùng (sperm survival test – SST) được phát triển như là một xét nghiệm nâng cao để đánh giá khả năng sống của tinh trùng trong điều kiện in vitro trong kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm (in vitro fertilization – IVF). Xét nghiệm này không đòi hỏi thiết bị đắt tiền và có thể thực hiện dễ dàng với chi phí thấp, do đó, nó có thể là xét nghiệm thường quy ở các trung tâm IVF, bổ sung thêm cho các xét nghiệm tinh dịch đồ cơ bản.

Ngoài ra, sức sống tinh trùng còn phản ánh tỷ lệ sống. Kết quả đánh giá tỷ lệ sống cho phép kiểm tra chéo kết quả của tỷ lệ di động. Thông

Tác giả liên hệ (Corresponding author):  
Nguyễn Thị Thái Thanh,  
email: thanhtmg@gmail.com  
Ngày nhận bài (received): 10/12/2017  
Ngày phản biện đánh giá bài báo (revised):  
05/01/2018  
Ngày bài báo được chấp nhận đăng  
(accepted): 12/01/2018

thường, tỷ lệ tinh trùng chết không được vượt quá tỷ lệ bất động và tỷ lệ tinh trùng sống thường nhiều hơn tỷ lệ tinh trùng di động. Việc xác định tình trạng sống/chết của tinh trùng dựa vào nguyên tắc là các tinh trùng sống thường có màng tế bào còn nguyên vẹn, được phát hiện bằng sự loại bỏ thuốc nhuộm hoặc khả năng điều hòa áp suất thẩm thấu dưới điều kiện nhược trương. Chính sự toàn vẹn của màng tế bào sẽ ngăn cản sự xâm nhập thuốc nhuộm. Nhiều phương pháp nhuộm có thể được sử dụng như nhuộm eosin đơn thuần, trypan blue, eosin-nigrosin hoặc sử dụng xét nghiệm phản ứng nhược trương (hypo-osmotic swelling test – HOST) [13]. Giá trị giới hạn tối thiểu đối với tỷ lệ sống là 58% (WHO, 2010) [19].

Trước đây, có nhiều nghiên cứu chỉ ra ảnh hưởng của sức sống tinh trùng đến IVF. Tuy nhiên, khi thực hiện kỹ thuật ICSI, yếu tố sức sống tinh trùng dường như không được chú ý nữa.

Trong kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (intracytoplasmic sperm injection-ICSI), cần lựa chọn những tinh trùng di động (còn sống) nhằm mục đích hạn chế tỷ lệ tinh trùng bị tổn thương DNA thụ tinh với trứng. Khi chuẩn bị tinh trùng bằng phương pháp Percoll, Aitken và cs (2010) nhận thấy rằng có khoảng 5% tinh trùng sống bị tổn thương. Tuy nhiên, nhóm tác giả nhận thấy không có sự tương quan giữa tổn thương DNA tinh trùng đến kết quả lâm sàng. Do đó, phương pháp chuẩn bị tinh trùng bằng ly tâm theo gradient nồng độ được sử dụng để hạn chế sự tổn thương tinh trùng [2]. Tổn thương DNA làm thay đổi chức năng hoạt động của tinh trùng, dẫn đến giảm phản ứng acrosome, giảm tỷ lệ thụ tinh. Phản ứng acrosome và xét nghiệm sức sống tinh trùng có mối tương quan với giá trị đứt gãy DNA, đặc biệt trong trường hợp tỷ lệ thụ tinh <60%. Có thể thấy rằng sức sống tinh trùng có mối tương quan đến tổn thương DNA tinh trùng [15].

Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài “Nghiên cứu ảnh hưởng sức sống của tinh trùng đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm” nhằm đánh giá sức sống của tinh trùng sau lọc rửa với các mốc thời gian 0 giờ, 24 giờ và 48 giờ, đồng thời khảo sát ảnh hưởng của sức sống tinh trùng đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện theo phương pháp hồi cứu trên 100 cặp vợ chồng vô sinh điều trị tại Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh – Bệnh viện Đại học Y Dược Huế (HUECREI) từ tháng 01/2017 đến tháng 12/2017, trong đó: người vợ không gặp vấn đề về vô sinh và mẫu tinh dịch được thu thập từ xuất tinh, không nghiên cứu mẫu từ phẫu thuật hoặc xuất tinh ngược dòng và mẫu tinh trùng rất ít, yếu (cryptozoospermia).

Mẫu tinh dịch của người chồng được lọc theo phương pháp gradient nồng độ bằng dung dịch Sil-select plus (Fertipro, Bỉ). Đây là dung dịch chứa các hạt nhỏ silic dioxyt phủ silane trong EBSS (dung dịch muối cân bằng của Earle) với đệm HEPES (đệm pH). Nó không gây độc tế bào. Sau đó, mẫu được rửa lại 2 lần với môi trường nuôi cấy Fertilul Flushing (Fertirol, Bỉ). Cuối cùng, mẫu được nuôi trong môi trường Sperm Rinse (Vitrolife, Thụy Điển) ở nhiệt độ 37°C trước khi sử dụng trong kỹ thuật ICSI. Đánh giá mật độ, tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới (progressive – PR) và tỷ lệ sống tại thời điểm này (0 giờ). Tiến hành nuôi tiếp tinh trùng ở 37°C trong tủ ấm và đánh giá thông số PR, tỷ lệ sống tại thời điểm sau 24 giờ và 48 giờ.

Độ di động được khảo sát bằng cách quan sát sự di động tự nhiên của tinh trùng, sau đó tính tỷ lệ giữa tinh trùng di động trên tổng số tinh trùng quan sát và được thể hiện bằng phần trăm. Độ di động của tinh trùng được phân làm 3 loại là (1) di động tiến tới (progressive-PR), (2) di động không tiến tới (non progressive-NP), (3) không di động (immotile-IM). Sức sống được đánh giá nhờ phản ứng với thuốc nhuộm eosin và được tính bằng tỷ lệ phần trăm giữa tinh trùng sống trên tổng số tinh trùng quan sát.

Chỉ số đánh giá sức sống tinh trùng (vitality survival index – VSI) được tính bằng phần trăm giữa tỷ lệ sống ở thời điểm 24 giờ trên tỷ lệ sống ban đầu. Tương tự, chỉ số di động (motility survival index – MSI) tính bằng phần trăm giữa độ di động sau 24 giờ nuôi cấy trên độ di động ở 0 giờ [12].

Quy trình ICSI sử dụng tinh trùng sau lọc rửa được thực hiện như quy trình thường quy chuẩn. Noãn sau đó được nuôi cấy đơn trong G-TL (Vitrolife, Thụy Điển) ở tủ nuôi cấy Galaxy 170R 37°C, 5% O<sub>2</sub>, 5,5% CO<sub>2</sub>. Đánh giá phôi ngày 2 theo tiêu chuẩn của Alikani và cs (2003) và Veek và Zaninovic (2003) vào 42-46 giờ sau ICSI như sau: (1) Phôi tốt (loại I): phôi 4-8 tế bào, số phôi bào chẵn, không có mảnh vỡ, kích thước đồng đều, phôi bào đối xứng; (2) Phôi khá (loại II): số phôi bào lẻ, <15% mảnh vỡ, kích thước đồng đều hoặc không, phôi bào đối xứng hoặc không; (3) Phôi xấu (loại III): số lượng phôi bào không phải 4-6, >20% mảnh vỡ, kích thước không đều, phôi bào không đối xứng [3,18]. 2-3 phôi tốt nhất được lựa chọn để chuyển phôi vào ngày 2. Tỷ lệ thụ tinh được đánh giá bằng phần trăm giữa số hợp tử tạo thành trên số trứng thực hiện ICSI. Tỷ lệ phôi tốt tính bằng phần trăm giữa số phôi tốt trên tổng số phôi tạo thành.

Kết quả chính là tỷ lệ beta-hCG, tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ thai diễn tiến. Thử thai thực hiện vào 14 ngày sau khi chọc hút noãn, beta-hCG >25 mIU/ml được xem là dương tính. Tỷ lệ thai lâm sàng được tính bằng tỷ lệ phần trăm các trường hợp có thai lâm sàng trên tổng số các trường hợp chuyển phôi. Thai lâm sàng được ghi nhận khi xác định được hình ảnh túi thai và đo được tim thai vào khoảng 3 tuần sau khi có xét nghiệm beta-hCG dương tính. Tỷ lệ thai diễn tiến là tỷ lệ phần trăm các trường hợp có thai diễn tiến (thai 12 tuần tuổi trở lên) trên tổng số các trường hợp chuyển phôi.

Xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm SPSS 20.0 (Mỹ) với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi p-value < 0,05.

## 3. Kết quả

Từ tháng 01/2017 đến tháng 12/2017, chúng tôi tiến hành nghiên cứu 100 cặp vợ chồng điều trị thụ tinh trong ống nghiệm tại Trung tâm. Vì nguyên nhân vô sinh không xuất phát từ người vợ nên chúng tôi tiến hành chia mẫu nghiên cứu thành 2 nhóm theo tiêu chuẩn đánh giá sức sống tinh trùng của WHO (2010) [19]: nhóm 1 là nhóm người chồng có sức sống tinh trùng bình thường

Bảng 1. Đặc điểm bệnh nhân

Đặc điểm	Nhóm 1 (n=55)	Nhóm 2 (n=45)	p-value
Tuổi trung bình người vợ	33,73±5,38	34,64±5,1	p>0,05
Tuổi trung bình người chồng	36,84±5,59	38,38±6,27	p>0,05
Thời gian vô sinh (năm)	6,02±4,18	4,96±3,33	p>0,05

Bảng 2. Các thông số tinh trùng

	Nhóm 1 (n=55)	Nhóm 2 (n=45)	p-value	
Mật độ ( $\times 10^6$ /ml)	28,35±12,85	16,13±11,6	p<0,05	
0 giờ	PR (%)	85,4±6	75,67±12,6	p<0,05
	Tỷ lệ sống (%)	92,24±9,87	87,64±9,32	p<0,05
24 giờ	PR (%)	47,95±13,39	20,51±11,6	p<0,05
	Tỷ lệ sống (%)	69,33±9,9	36,47±14,44	p<0,05
	MSI (%)	55,7±13,47	26,72±13,5	p<0,05
48 giờ	VSI (%)	77,83±29,42	41,47±16,17	p<0,05
	Tỷ lệ sống (%)	33,84±16,77	9,04±7,88	p<0,05

Bảng 3. Các thông số kết quả nuôi cấy phôi

	Nhóm 1 (n=55)	Nhóm 2 (n=45)	p-value
Số trứng thu được	10,76±5,1	9,93±6	p>0,05
Tỷ lệ thụ tinh (%)	85,29±15,95	81,74±16,94	p>0,05
Tỷ lệ phôi tốt (%)	71,38±35,51	50,15±29,7	p<0,05

Bảng 4. Kết quả có thai của các chu kỳ chuyển phôi

	Nhóm 1 (n=55)	Nhóm 2 (n=45)	p-value
Tỷ lệ beta-hCG (+) (%)	43,63	33,33	p<0,05
Tỷ lệ thai lâm sàng (%)	38,18	24,44	p<0,05
Tỷ lệ thai diễn tiến (%)	29,1	28,89	p>0,05

(tỷ lệ tinh trùng sống  $\geq 58\%$  sau 24 giờ và  $\geq 20\%$  sau 48 giờ nuôi cấy) gồm 55 cặp vợ chồng, nhóm 2 là nhóm người chồng có sức sống tinh trùng bất thường (tỷ lệ tinh trùng sống <58% sau 24 giờ và <20% sau 48 giờ nuôi cấy) gồm 45 cặp vợ chồng.

Tuổi trung bình người vợ ở 2 nhóm lần lượt là 33,75 và 34,64. Người chồng có độ tuổi trung bình từ 36 đến 38 tuổi. Sự khác biệt về độ tuổi của 2 nhóm nghiên cứu không có ý nghĩa thống kê. Thời gian mong con của họ kéo dài từ 4 đến 6 năm (bảng 1).

Các thông số đánh giá tinh trùng được trình bày ở bảng 2.

Chúng tôi nhận thấy có sự khác biệt về mật độ, PR và tỷ lệ sống sau khi lọc rửa ở 2 nhóm. Nhóm có thông số sức sống tinh trùng bình thường có mật độ ( $28,35 \times 10^6$ /ml) và PR (85,4%) cao hơn nhóm còn lại, Chỉ số MSI và VSI nhằm đánh giá sức sống tinh trùng của nhóm 1 cao hơn so với nhóm 2 (lần lượt là 55,7% so với 26,72% và 77,83% so với 41,47%). Tất cả sự khác biệt về thông số nghiên cứu đều có ý nghĩa thống kê.



Bảng 3 trình bày kết quả thụ tinh trong ống nghiệm của nghiên cứu. Kết quả này cho thấy khi sử dụng tinh trùng nhóm 1 để ICSI thì tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ phôi tốt tạo thành cao hơn so với nhóm 2. Tuy tỷ lệ thụ tinh giữa 2 nhóm khác biệt không đáng kể nhưng tỷ lệ phôi tốt lại có sự chênh lệch khá lớn. Nhóm 1 cho tỷ lệ phôi tốt 71,38%, trong khi đó, nhóm 2 có tỷ lệ phôi tốt chỉ 50,15%. Điều này dẫn đến kết quả có thai của các chu kỳ chuyển phôi ở nhóm 1 tốt hơn so với nhóm 2 (bảng 4).

#### 4. Bàn luận

Khi khảo sát đặc điểm của bệnh nhân, chúng tôi nhận thấy tuổi trung bình của cả người vợ và chồng ở hai nhóm không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Điều này có ý nghĩa trong việc đưa ra nhận định về mối tương quan giữa sức sống tinh trùng đến kết quả ICSI bởi vì độ tuổi là một trong những nhân tố có ảnh hưởng đến kết quả điều trị. Ngoài ra, tuổi trung bình của người chồng xấp xỉ từ 36 đến 38 tuổi, lứa tuổi không quá lớn, thích hợp để thực hiện nghiên cứu. Bởi vì một số nghiên cứu đã cho thấy nam giới có độ tuổi càng lớn thì sức sống cũng như tính toàn vẹn DNA của tinh trùng càng giảm. Phát hiện này khá quan trọng vì ngày nay, với nhịp sống hiện đại, độ tuổi muốn có con của người nam đang ngày một lớn hơn [12].

Người nam có tiền sử hút thuốc và sử dụng thuốc, tiếp xúc với môi trường độc hại cũng như bệnh nhân bị giãn tĩnh mạch thừng tinh, tiền sử ung thư và tổn thương tinh hoàn thì DNA bị tổn thương nhiều. Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn nam giới khỏe mạnh, không có vấn đề về bệnh lý nào liên quan đến suy giảm khả năng sinh sản nên đã hạn chế sai lệch kết quả thu được.

Tinh trùng sau lọc rửa được nuôi cấy trong khoảng thời gian dài làm giảm sức sống tinh trùng, đặc biệt ở bệnh nhân lớn tuổi và bệnh nhân có tổn thương DNA nhiều. Do đó, trong xử lý tinh trùng cho ICSI, cần lưu ý thời gian tiến hành chuẩn bị mẫu tinh trùng, tránh trường hợp nuôi tinh trùng quá lâu. Đối với trường hợp rescue ICSI với các trứng chưa trưởng thành, sức sống

tinh trùng là yếu tố quan trọng cho thành công của quy trình này. Theo Coccia và cs (2012), độ di động của tinh trùng giảm sau 24 giờ, cùng với đó là sự giảm sức sống tinh trùng. Tác giả đề xuất thời gian nuôi cấy thích hợp cho tinh trùng là trong vòng 6 giờ để hạn chế giảm độ di động và sức sống [6].

Khi sử dụng kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm (IVF cổ điển), sức sống tinh trùng đóng vai trò quan trọng trong việc tiên lượng tỷ lệ thụ tinh [5]. Franco và cs (1993) đã nghiên cứu hiệu quả của SST trong tiên lượng tỷ lệ thụ tinh trong IVF [9]. Coccia và cs (1997) cũng báo cáo kết quả sức sống tinh trùng bất thường tạo ra <90% chu kỳ thất bại [5]. Eskandar và cs (2002) đã nghiên cứu mối liên quan giữa độ di động của tinh trùng sau 24 giờ và tỷ lệ thụ tinh in vitro trong IVF. Kết quả cho thấy tinh trùng bất động sau 24h có liên quan đến tỷ lệ thụ tinh giảm [8]. Tuy nhiên, các nghiên cứu này hầu hết tập trung trong kỹ thuật IVF cổ điển. Với sự tiến bộ của khoa học kỹ thuật, ngày nay kỹ thuật sử dụng chủ yếu trong điều trị là ICSI. Nhưng lại có ít các nghiên cứu về sức sống tinh trùng vì dường như ICSI đã loại trừ một phần nào ảnh hưởng của sức sống tinh trùng đến kết quả thụ tinh. Mặc dù vậy, chúng tôi nhận thấy rằng chỉ số sức sống tinh trùng lại có thể giúp tiên lượng một phần kết quả của ICSI.

Sau khi chia mẫu nghiên cứu ra làm 2 nhóm theo mức độ bất thường của sức sống tinh trùng, kết quả cho thấy nhóm tinh trùng có sức sống bình thường (nhóm 1) có PR, tỷ lệ sống ban đầu cao hơn nhóm có sức sống bất thường (nhóm 2). Như vậy, mẫu ban đầu của nhóm 2 đã có tổn thương DNA. Moskovtsev và cs (2007) đã tìm ra mối tương quan giữa tổn thương DNA và sức sống tinh trùng, biểu hiện qua MSI và VSI ở 6 giờ và 24 giờ nuôi cấy. Nhóm tác giả cho rằng các tác nhân gây oxy hóa (reactive oxygen species – ROS) đã tấn công màng phospholipid của tế bào và tạo ra acid béo peroxide cũng như các sản phẩm phân giải khác. ROS được tạo ra bởi leukocyte và tinh trùng chưa trưởng thành bị loại bỏ khi xử lý tinh trùng bằng gradient nồng độ. Tinh trùng bất thường tạo ra nhiều ROS do hệ thống chống oxy hóa hoặc hoạt tính của các enzyme tạo ROS bị hư hại. Mặt khác,

ROS làm tổn thương màng tế bào và/hoặc nhân nên ảnh hưởng đến sức sống tinh trùng [12]. Do đó, các mẫu tinh trùng bất thường ngay từ ban đầu thì sau thời gian nuôi cấy sẽ cho các chỉ số bất thường nặng hơn. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của chúng tôi. Nhóm 1 có sức sống cao hơn (tổn thương DNA ít hơn) nên cho tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ phôi tốt cũng như kết quả lâm sàng tốt hơn nhóm 2.

Như vậy, sức sống tinh trùng dường như có mối tương quan với kết quả thụ tinh trong ống nghiệm khi kết quả trong nghiên cứu chúng tôi chỉ ra việc nhóm sử dụng tinh trùng có chỉ số MSI và VSI cao thì kết quả ICSI cao hơn nhóm còn lại. Xem xét các y văn trước đó, chúng tôi thấy rằng từ năm 1982, Bostofte và cs đã nhận định mối liên quan giữa tinh trùng có hình thái bất thường và tỷ lệ có thai trong 20 năm liên tục. Ngoài ra, nhóm tác giả còn ghi chú mối tương quan đáng kể khi tăng tỷ lệ tinh trùng bất thường sẽ làm giảm tỷ lệ trẻ sinh sống [4]. Cũng trong năm đó, Aitken và cs đã nghiên cứu và phân tích mối tương quan về khả năng sinh sản của nam giới với kết quả tinh dịch đồ. Họ kết luận rằng xét nghiệm tinh dịch đồ thường quy không cho chỉ số thụ tinh đáng tin cậy nên cần phải có các test đánh giá tinh trùng nhạy hơn để kiểm tra sự suy giảm chức năng sinh sản ở nam giới [1]. Cũng có kết luận tương tự như trên, Gopalkrishnan và cs (2000) sau khi phân tích mẫu tinh dịch đồ của 32 cặp vợ chồng bị sảy thai sớm và so sánh với 51 cặp vợ chồng sinh sản bình thường, đã cho kết quả giá trị trung bình của thể tích, mật độ, độ di động, hình thái, tỷ lệ sống và phần trăm tinh trùng có hình thái bình thường khác biệt không đáng kể so với đối chứng. Chỉ duy nhất thông số tỷ lệ tinh trùng bất thường đầu là cao hơn đáng kể so với nhóm đối chứng [11]. Gần đây, Ghoshai và cs (2014) đã báo cáo rằng vô sinh nam có liên quan đến tỷ lệ tinh trùng sống thấp hoặc số tinh trùng bất động nhiều [10].

Sức sống tinh trùng thấp chủ yếu là do DNA tinh trùng bị tổn thương nên làm rối loạn chức năng của tinh trùng. Tổn thương DNA ở dòng tế bào mầm ở nam giới liên quan đến nhiều bệnh lý khác nhau bao gồm tăng sảy thai và bệnh

tật ở con cái. Nguồn gốc tổn thương DNA là do ROS, quá trình đóng gói sợi nhiễm sắc hay do quá trình chết tế bào. Về mặt lý thuyết, tổn thương DNA làm thay đổi chức năng tế bào của tinh trùng và dẫn tới phản ứng acrosome giảm nên giảm tỷ lệ thụ tinh. Sức sống của tinh trùng cũng giảm khi tổn thương DNA tăng. Tuy nhiên, kỹ thuật ICSI đã làm giảm kết quả tiêu cực do tổn thương DNA gây ra.

Trong các tác nhân gây tổn thương DNA, tổn thương do oxy hóa tương đối phổ biến và các hệ quả lâm sàng của tổn thương này khá trầm trọng nên cần xem xét nghiêm túc việc sử dụng các chất chống oxy hóa như là một biện pháp điều trị dự phòng cho nam giới. De Amicis và cs (2012) đưa ra nghiên cứu ảnh hưởng của EGCG (epigallocatechin gallate) trong trà xanh đến sức sống tinh trùng nhằm tăng khả năng sống của tinh trùng [7]. Ngoài ra, đời sống lành mạnh của nam giới cũng được khuyến cáo nhằm giảm các tác nhân làm tổn thương DNA tinh trùng. Hút thuốc là một trong những tác nhân ảnh hưởng tiêu cực đến số lượng tinh trùng, độ di động và hình thái, việc tăng các tác nhân gây oxy hóa [14]. Tuy nhiên, ảnh hưởng tiêu cực của hút thuốc đến vô sinh nam đã bị phủ nhận bởi nhiều cặp vợ chồng vẫn có con và cũng có tinh trùng bình thường dù người chồng có sử dụng thuốc lá. Người ta kiến nghị rằng nam giới với chất lượng tinh trùng không tốt có thể có lợi khi bỏ thuốc vì thuốc lá có thể có liên quan đến sự hình thành đứt gãy DNA trong tinh trùng [17].

Qua nghiên cứu này, chúng tôi đưa ra một số kết luận tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới (PR) và sức sống tinh trùng giảm dần theo thời gian nuôi cấy; Sức sống tinh trùng có mối tương quan đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm, cụ thể là: kết quả thụ tinh trong ống nghiệm tốt hơn khi sử dụng tinh trùng có sức sống bình thường, nhóm sử dụng tinh trùng có sức sống bình thường có tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi tốt, tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ thai diễn tiến cao (lần lượt là 85,29%, 71,38%, 38,18% và 29,1%); Cần tiếp tục nghiên cứu này với cỡ mẫu lớn hơn, đồng thời tiến hành nghiên cứu sâu hơn nguyên nhân gây ra sức sống tinh trùng yếu và nguyên nhân làm giảm sức sống tinh trùng trong quá trình nuôi cấy.

## Tài liệu tham khảo

1. Aitken R. J, Best F.S.M., Richardson D.W, Djahanbakhch O, Mortimer D, Tempelton A A, Lees, M.M. 1982. An analysis of sperm function in cases of unexplained infertility: Conventional criteria, movement Characteristics and fertilizing capacity. *Fertility & Sterility*. 38 (1): 212- 221.
2. Aitken RJ, De Iulius GN, Finnie JM, Hedges A, McLachlan RI. 2010. Analysis of the relationships between oxidative stress, DNA damage and sperm vitality in a patient population: Development of diagnostic criteria. *Hum Reprod*. 25(10):2415–26.
3. Alikani M, Ceklenikak NA, Walter E, Cohen J. 2003. Monozygotic twinning following assisted conception: an analysis of 81 consecutive cases. *Human Reprod*. 18:1937-41.
4. Bostofte E., Serup J, Rebbe H. 1982. Relation between sperms count & semen volume, and pregnancies obtained during twenty- year follow- up period. *International Journal of Andrology*. 5: 267- 275.
5. Coccia ME, Becattini C, Criscuoli L, Fuzzi B, Scarsell G. 1997. A sperm survival test and in-vitro fertilization outcome in the presence of male factor infertility. *Human Reprod*. 12(9):1969-1973.
6. Coccia ME, Becattini C, Criscuoli L, Fuzzi B, Scarselli G, Taha EA, et al. 2012. The rapid detection of cytotoxicity using amodified human sperm survival assay. *Fertil Steril*. 25(4):311–7.
7. De Amicis F, Santoro M, Guido C, Russo A, Aquila S. 2012. Epigallocatechin gallate affects survival and metabolism of human sperm. *Mol Nutr Food Res*. 56(11):1655–64.
8. Eskandar M. 2002. Is 24h sperm motility a useful IVF measure when male infertility is not apparent. *Acta Obstet gynecol Scand*. 81:328-330.
9. Francon J.G, Mauri A.L, Petersen C.G, Bauruffi R.L.R, Campos M.S, Oliveira J.B.A. 1993. Efficacy of the sperm survival test for the prediction of oocyte fertilization in culture. *Human Reprod*. 8(6):916-918.
10. Ghoshal JA, Sawant VG, Shakya PS. 2014. Comparative Study of Sperm Vitality in Fertile and Infertile Males. *J Evol Med Dent*. 3(69):14758–62
11. Gopalkrishnan K, Padwal V, Meherji P.K, Gokral J.S, Shah R, Juneja H.S. 2000. Poor quality of sperm as it affects repeated early pregnancy loss. *Archives of Andrology*. 45: 111-117.
12. Moskovtsev SI, Willis J, White J, Mullen JBM. 2007. Sperm survival: Relationship to age-related sperm DNA integrity in infertile men. *Syst Biol Reprod Med*. 53(1):29–32.
13. Moskovtsev SI, Librach CL. 2013. Spermatogenesis. *Methods Mol Biol*. 927:13–9. 3
14. Mostafa T. 2010. Cigarette smoking and male infertility. *J Adv Res*. 1:179-186.
15. Ozmen B, Caglar GS, Koster F, Schopper B, Diedrich K, Al-Hasani S. 2007. Relationship between sperm DNA damage, induced acrosome reaction and viability in ICSI patients. *Reprod Biomed Online*. 15(2):208–14.
16. Speroff L, Fritz M. 2005. Male infertility. In: Speroff L, Fritz M, eds. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Lippincott Williams and Wilkins. 1135-74.
17. Taha EA, Ez-Aldin AM, Sayed SK, Ghandour NM, Mostafa T. 2012. Effect of smoking on sperm vitality, DNA integrity, seminal oxidative stress, zinc in fertile men. *Urology*. 80(4):822–5
18. Veek LL, Zaninovic A. 2003. An atlas of human blastocyst. Parthenon Publishing Group, New York.
19. WHO. 2010. World Health Organization laboratory manual for the examination and processing of human semen. WHO Press, Geneva.